

Institut für Neuropathologie
im Fachbereich Klinisch - Theoretische Medizin
Klinikum Steglitz

**Quantitativ – autoradiographische Untersuchungen
zu den Veränderungen des materno – fetalen Übertritts
von ^3H – Thymidin während der Schwangerschaft der Ratte**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans Püschmann

aus Hannover

1973

Institut für Neuropathologie
im Fachbereich Klinisch - Theoretische Medizin
Klinikum Steglitz

**Quantitativ – autoradiographische Untersuchungen
zu den Veränderungen des materno – fetalen Übertritts
von ^3H – Thymidin während der Schwangerschaft der Ratte**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans Püschmann

aus Hannover

Referent : Professor Dr. Cervos - Navarro

Korreferent : Professor Dr. Köhler

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät -
reife der Freien Universität Berlin.

Promoviert am 21. August 1973

Für Dagmar,

die das Schaffen an dieser Arbeit nicht
permanent versüßte, es aber niemals un-
interessant werden ließ.



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Inhaltsverzeichnis

<u>1. Einleitung</u>	4
<u>1.1.</u> Das Thema	4
<u>1.2.</u> Die Arbeit	4
<u>1.3.</u> Dank	6
<u>2. Die Biologie des ^3H-Thymidin</u>	7
<u>2.1.</u> Chemie des ^3H -Thymidin	7
<u>2.2.</u> Biochemie und Biologie der ^3H -Thymidin - Autoradiographie	7
<u>3. Methoden</u>	11
<u>3.1.</u> Einleitung	11
<u>3.2.</u> Versuchstiere	11
<u>3.3.</u> Histologie	13
<u>3.4.</u> Kritik der histologischen Methode	15
<u>3.5.</u> Autoradiographie	17
<u>3.5.1.</u> Übersichtsliteratur	17
<u>3.5.2.</u> Ausschaltung von Fehlerquellen	17
<u>3.5.3.</u> Beschreibung der Technik	18
<u>3.5.4.</u> Färben und Eindecken	19
<u>3.5.5.</u> Mikroskopie	20
<u>3.6.</u> Bibliographische Methoden	21
<u>3.6.1.</u> Literatur - Erfassung	21
<u>3.6.2.</u> Kritik	22
<u>3.7.</u> Statistische Methodik	23
<u>3.7.1.</u> Übersichtsliteratur	23
<u>3.7.2.</u> Bearbeitung der Zahlen	23
<u>4. Histologie der untersuchten Gewebe</u>	27
<u>4.1.</u> Gewebeauswahl	27
<u>4.2.</u> Uterusschleimhaut	28
<u>4.2.1.</u> Histologie	28
<u>4.2.1.</u> Funktionszustand	29

4.3.	Embryonaler Knorpel	29
4.4.	Embryonale Haut	29
5.	<u>Bau und Funktion der materno - fetalen Übertrittsorgane</u>	31
5.1.	Einleitung	31
5.2.	Topographie	32
5.3.	Bau der Eihäute	32
5.4.	Funktion der Eihäute	35
5.5.	Histologie der Placenta	35
5.5.1.	Lichtmikroskopische Befunde	35
5.5.2.	Elektronenmikroskopie	36
5.6.	Funktion der Placenta	38
6.	<u>Ergebnisse</u>	41
6.1.	Beschreibende Statistik	41
6.2.	Folgerungen	44
6.3.	Kritik	45
7.	<u>Zusammenfassung</u>	46
8.	<u>Tabellen und Abbildungen</u>	47
9.	<u>Literaturverzeichnis</u>	55

1. Einleitung

1.1. Das Thema

"Alkmaion fand, daß die Leibesfrüchte sich vermittels des ganzen Körpers ernähren. Und zwar nähmen sie durch ihn, wie durch einen Schwamm, das für sie zur Nahrung Geeignete von der Speise auf."

Diese Vorstellungen (1) des süditalienischen Arztes Alkmaion von Kroton (um 500 v. Chr.) sollen in der vorliegenden Arbeit spezifiziert werden.

Ausgangspunkt dieser Untersuchung war eine Literaturstelle von Wegener, Hollweg und Maurer (107):

" Vorerst kann nur die Vermutung ausgesprochen werden, daß die Placenta eine Diffusions - Behinderung für H-3-Thymidin darstellt. Wie auch für andere Substanzen bekannt ist, sollte diese Durchtritts - Behinderung bei jüngeren Feten kleiner sein, wie ein einzelner Versuch mit einer Ratte am 17. Tag der Schwangerschaft auch wahrscheinlich machte. Hier war die Kornzahl/Kern bei den fetalen Zellen relativ zum Muttertier ungefähr 1,5mal größer als am 20. Tag." Diese Vermutung sollte nun in einem etwas umfangreicheren Versuch überprüft werden.

1.2. Die Arbeit

Die Idealforderung, daß eine wissenschaftliche Untersuchung ein vorher nicht bekanntes Ergebnis hervorbringt, das durch weitere Untersuchungen beliebig oft reproduziert und bestätigt werden kann, wird von dieser Arbeit nicht erfüllt.

Das Kollektiv von Versuchstieren, an deren Organen die Versuche durchgeführt wurden, war zu klein, als daß die Ergebnisse Anspruch auf eine allgemein geltende Richtigkeit erheben könnten. Die Versuchsserie war primär für andere Fragestellungen bestimmt

und in der Planung wurden deshalb die Belange dieser Arbeit kaum berücksichtigt.

Es dürfte also nicht das Ziel dieser Arbeit sein, Befunde zu beschreiben, diese zu diskutieren und Folgerungen aus ihnen zu ziehen. Ziel dieser Experimente ist vielmehr, die biologischen Bedingungen des materno - fetalen Übertritts aufzuzeigen und eingehend zu beschreiben, mit welchem methodischen Vorgehen diese untersucht werden können. Beide, das Objekt und die Methode, sind komplexer Natur; das Auseinandersetzen mit ihnen ist nicht völlig trivial. Das Zahlenmaterial, das am Ende einer jeden quantitativ - autoradiographischen Auswertung greifbar ist, wird in diesem vorliegenden Fall soweit ausgewertet, wie es statistisch vertretbar erscheint. Das heißt, es wird primär dazu verwendet, die Methode zu überprüfen, sekundär dazu, die Veränderungen des Übertritts zu beschreiben. Darum ist dies die einzige Stelle der Untersuchung, an der methodische Fragen undiskutiert bleiben, einfach deshalb, weil sie beim vorhandenen Material nicht auftreten können. Ich werde aber im entsprechenden Kapitel kurz darauf eingehen, wie ein zu forderndes großes Zahlenmaterial zu bearbeiten wäre.

Als Novität habe ich im methodologischen Teil einen Abschnitt über die Literatúrauswertung gebracht. Dies deshalb, weil ich glaube, daß mehr denn je zuvor die Qualität einer Arbeit von der Sorgfalt der Bemühungen auf diesem Sektor abhängt. Die Unterstellung, daß jede wissenschaftliche Veröffentlichung auf einer denkbar besten Auswertung der Literatur beruht, ist unwahr, wenn auch sie allein das Fehlen von Angaben zu den bibliographischen Methoden rechtfertigte.

Die Gliederung des Textes weicht bewusst von dem in

der Medizin üblichen Schema ab. Ich hoffe eine Lösung gefunden zu haben, die Verschachtelungen und Wiederholungen vermeidet.

1.3. Dank

Herr Dr. von Waechter stellte mir das Thema zur Verfügung, führte die Versuche mit den lebenden Ratten durch und unterstützte mich in allen Phasen der Arbeit durch Anleitung und Beratung.

Herrn Prof. Cervos - Navarro, an dessen Institut schon zu Zeiten der alten Fakultät demokratische Zustände antizipiert waren, danke ich für die Bereitstellung eines in jeder Hinsicht idealen Arbeitsplatzes.

Durch das freundliche Entgegenkommen von Herrn Prof. Kellner war es möglich die Untersuchungen am Wiener Histologisch - Embryologischen Institut abzuschließen.

2. Die Biologie des ^3H - Thymidin

2.1. Chemie des ^3H - Thymidin

Thymidin ist ein Nucleosid, aufgebaut aus der Pyrimidino se Thymine und der Pentose Desoxyribose. Die Moleküle sind durch eine glykosidische Bindung verknüpft. Der nun eingebürgerte Name Thymidin paßt nicht in das System der übrigen Trivialbezeichnungen für die Nucleinkörper, in dem durch die Endung -idin die Riboside, nicht aber die Desoxyriboside der Pyrimidinabkömmlinge bezeichnet werden (35).

Nach seiner 1957 zum ersten Mal beschriebenen Synthese (112) wird das mit Tritium markierte Thymidin zum spezifischen autoradiographischen Nachweis von DNS verwendet.

Das Tritium ist ein reiner β -Strahler (9).

2.2. Biochemie und Biologie der ^3H - Thymidin - Autoradiographie

Eine der Hypothesen, die bei autoradiographischen Arbeiten mit markiertem Thymidin stets aufgestellt wird, ist die, daß das Thymidin ein spezifischer Bestandteil der DNS ist, und daß die DNS ein spezifischer Bestandteil des Zellkernes ist. In den meisten Arbeiten nämlich werden mit der Autoradiographie der Zeitpunkt und die Intensität der Synthese der Zellkern-DNS untersucht. In dieser Arbeit ist die Intensität der Markierung Maßstab für die Konzentration des zirkulierenden ^3H -Thymidin. Nur wenn diese Hypothese richtig ist, strahlen gut erforschte qualitativ und quantitativ identische Zellfraktionen, die vergleichbare Effekte an der Photoemulsion hervorrufen.

Diese Setzung muß nun gegen folgende Angriffe ver-

teidigt werden:

1. Das Thymin ist kein spezifischer DNS - Bestandteil, sondern es wird auch in der tRNS gefunden. **Entkräftung:** Die Befürchtung, daß ein markiertes Abbauprodukt des Thymidins in der tRNS auftaucht, ist unbegründet, da das Thymin der tRNS durch Methylierung von Uracilmolekülen entsteht, die ihrerseits bereits fest in eine Polynucleotidkette eingebaut sind (103, 106).

2. Es gibt DNS außerhalb des Zellkernes, nämlich in den Mitochondrien (12, 14, 43), die auch elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden konnte (58, 59), und in den Zentriolen von Tierzellen, sowie in den Plastiden von Euglena (27).

Entkräftung: Der DNS-Gehalt in diploiden Zellkernen der Ratte beträgt nach Harbers (35) und Siebert (94) $6,5 \cdot 10^{-12}$ g. Dagegen steht ein DNS-Gehalt pro Zentriol von $2 \cdot 10^{-16}$ g und pro Mitochondrium von $1-5 \cdot 10^{-16}$ g. Der letztgenannte Wert ist abhängig von der Funktion des Organes. Er steigt zum Beispiel im Rattenmuskel nach Anstrengung stark an (48).

Nach David (17) und Siebert (94) beträgt der Anteil der Mitochondrien - DNS an der Gesamt - DNS der Zelle 0,3 - 1,0 %.

Die Gesamtzahl der Mitochondrien der Zelle wird von David und Mölbert (61) in der Größenordnung 1000 angegeben.

Die vier Zahlenwerte, von denen einer durch morphologische und drei durch biochemische Untersuchungen ermittelt wurden, passen gut zusammen. Es kann also mit großer Sicherheit gesagt werden, daß die entstandenen Silberkörner Effekte der markierten Zellkern - DNS sind. Hierzu zählt auch die DNS des Chromatins am Nucleolus, die aller-

dings nicht in der S-Phase, sondern während und kurz nach der Cytokinese synthetisiert wird (43). Da sie deshalb nur bei einem sehr kleinen Teil der Zellen markiert sein kann und weil ihre Menge sehr klein ist, kann sie vernachlässigt werden.

Wichtige Voraussetzung zur Kornzählung ist die DNS-Konstanz der Zellen während aller Tage der Schwangerschaft bei Muttertier und Embryo. Wenn auch diesbezügliche Untersuchungen von mir nicht gefunden worden sind, lassen folgende Einzelbefunde das vermuten.

Beim Menschen einerseits wurde von Rask-Madsen und Philip (80) nachgewiesen, daß die Chromosomenzahl des nicht schwangeren Uterus konstant ist. Andererseits stellte Huang (39) bei *Rattus (Mastomys) natalensis* fest, daß die Chromosomen der gleichen Nummer in verschiedenen Zellen morphologische Unterschiede aufweisen, der DNS-Gehalt der Zelle aber konstant ist.

Bei der erwachsenen Ratte ändert sich der DNS-Gehalt der Zelle nicht, weder im Alter (22), noch unter verschiedenen pharmakologischen Einflüssen. Ebenso zeigt die lichtmikroskopische Kernmorphologie keine Veränderungen (3).

Zur fetalen DNS-Konstanz lagen mir keine Arbeiten vor.

Der Anteil des bei der DNS-Reduplikation inkorporierten exogenen Thymidin beträgt bei den üblichen Dosierungen 0,1 - 1,0 % der Gesamtmenge. Einen Eingriff in den Thymidinhaushalt stellen solche Experimente also kaum dar. (49, 50). Immerhin ist es wichtig - nicht nur wegen der hohen Kornzahlen -, daß die Dosierung wirklich niedrig ist, da nur dann eine proportionale Beziehung zwischen der angebotenen und der inkor-

porierten ^3H -Thymidin Menge besteht. Die Inkorporationsrate nämlich kann sich nur asymptotisch einem Wert von 100% markierter DNS nähern (91).

Das ^3H -Thymidin wird während der S-Phase nicht proportional zu deren Dauer eingebaut; sondern am Anfang und am Ende der S-Phase ist die Einbaurate niedrig, hoch dagegen in der Mitte. Diese Dynamik könnte zur großen Streuung der Kornzählungen beitragen (51, 52).

3. Methoden

3.1. Einleitung

Entsprechend der Idee der Arbeit und der großen Bedeutung der methodischen Verfahren bei autoradiographischen Arbeiten soll auf diese ausführlich eingegangen werden.

3.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten gesunde weibliche Wistar-Albino-Ratten, die freundlicherweise vom Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin, 1 Berlin-33 Thielallee 69-73, zur Verfügung gestellt wurden. Das Gewicht betrug 200-270 g. Die Tiere wurden mit Wasser und Altromin-Standardkost ad libitum ernährt und bei konstanter Raumtemperatur (22°C) und Luftfeuchtigkeit (60 rel. %) gehalten. 14 Tage vor Versuchsbeginn wurden die Ratten an einen umgekehrten Tag-Nacht-Rhythmus adaptiert, dessen Hellperiode von 12.00 Uhr mittags bis 2.00 Uhr morgens dauerte.

Zwischen 8.00 Uhr morgens und 10.00 Uhr morgens wurden die Weibchen mit Männchen zusammengesetzt. Fanden sich dann beim Vaginalabstrich Spermien, so galt 9.00 Uhr dieses Tages als Beginn der Gravidität. Die Tragdauer der Ratten beträgt 20-22 Tage (100).

Die radioaktive Substanz wurde über die Schwanzvene injiziert. Nach 45 Minuten -am Ende der Verfügbarkeitszeit (92)- wurden die Tiere dekapitiert. Die Organe wurden entnommen und nach Karnovsky (67) fixiert. Hierzu Tabelle 1.

Tabelle 1

Die Versuchstiere und ihre Behandlung

Tier	Tag	Gewicht	Dosis		Material
<u>R 6</u>	14	200 g	8 μ Ci/g	11	Embryonen
<u>R 8</u>	15	200 g	5 μ Ci/g	9	Embryonen
<u>R 9</u>	16	250 g	5 μ Ci/g	10	Embryonen
<u>R 10</u>	17	250 g	5 μ Ci/g	5	Embryonen
<u>R 11</u>	12	230 g	5 μ Ci/g	7	Embryonen
<u>R 12</u>	19	270 g	5 μ Ci/g	6	Embryoköpfe
<u>R 13</u>	20	240 g	5 μ Ci/g	8	Embryoköpfe
<u>R 14</u>	18	210 g	5 μ Ci/g	7	Embryoköpfe
<u>R 15</u>	18	195 g	2 μ Ci/g	7	Embryoköpfe

Dazu wurden von allen Tieren die Uteri zusammen
mit den Placenten entnommen.

3.3. Histologie

Als Material lagen mir vor in Paraplast eingebettete Organe, ganze Embryonen (12. - 17. Tag) und Embryoköpfe (18. - 20. Tag).

Die Blöcke mußten nun einheitlich geschnitten werden, um nicht die Photoemulsion allein durch unterschiedliche Schnittdicken verschiedenen Strahlungen auszusetzen. Der Versuch 3 μ m dicke Schnitte herzustellen scheiterte. Das Embryonalgewebe ließ solche Schnitte zu, nicht aber die Uteri, besonders die nicht, die noch anhaftende Placentateile hatten. Ich vermute, daß die Durchtränkung der Placentalabyrinthe mit Paraffin nicht ausreichend war.

Geschnitten wurde mit einem elektrisch angetriebenen Serienschnittmikrotom Typ Minot der Firma Jung Heidelberg bei Verwendung eines D-Messers. Folgende Überlegungen und Beobachtungen führten zu dieser Auswahl :

Beim Schneiden mit den üblichen in der Routinehistologie verwendeten Mikrotomen, denen ein einseitig neben dem Block aufgehängtes Messer gemein ist, kann folgender Vorgang oft beobachtet werden. Wenn die Laborantin einen brauchbaren Schnitt gewonnen hat, kommt es vor, daß sie das Messer mehrmals über den sich hebenden Block führen muß, um den nächsten brauchbaren solchen zu erhalten. Die erzielte Schnittdicke steht kaum noch im Zusammenhang mit der eingestellten, da das elastische Messer, abhängig von der Härte des Blocks und dem eingestellten Schnittwinkel dem Block ausweicht und auf ihm entlangschabt.

Diese Fehlerquelle ist beim Minotmikrotom, zumal bei Verwendung des äußerst starren D-Messers

ausgeschaltet.

Eine weitere Routinemethode, das Kühlen der Blöcke mit Eisstückchen, beeinflusste die Schnittdicke dadurch, daß von einem "wachsenden" Block abgeschnitten wird. Die zwangsweise erfolgende Unterbrechung der Kühlung hat eine unkontrollierte Ausdehnung des Blockes zur Folge.

Nachteilig in der gleichen Richtung allerdings wirkt die hohe Schnittgeschwindigkeit der Mikrotome, die zwar werkseitig durch entsprechende Auswahl des Getriebes begrenzt wird, aber doch zu einer erheblichen Erwärmung des Blockes führen kann. Der relative Fehler steigt natürlich mit fallender Schnittdicke stark an. Durch Aufblocken auf Metallträger und langsames Schneiden wurde versucht, die Fehler klein zu halten. (53)

Der nicht schulgemäße Gebrauch des D - Messers (83) ergab sich primär aus der Schwierigkeit, die zusammengeschobenen Schnitte aufzunehmen und im Wasserbad zu glätten. Beim D - Messer als einzigem Typ trat diese Komplikation nicht auf, da die Schnitte über die makroskopische Facette des Messers hinwegrutschten und dann mit dem Förderband aufgenommen und entfaltet werden konnten. (Die problemorientierte Methodenauswahl provoziert auch bei anderen Untersuchern (2) nicht schulgemäße Lösungen.)

Das Schneiden von Schnittserien hat den großen Vor-

teil, daß beim Betrachten der Schnitte auf dem Band Änderungen der Schnittqualität einzelner Schnitte leicht erkannt werden und diese eliminiert werden können.

Jeweils 4 - 6 Schnitte wurden aufgenommen und ins unter 50°C warme Wasserbad übertragen. Während des ganzen Verfahrens erleiden die Schnitte kaum Manipulationen.

3.4. Kritik der histologischen Methode

Obwohl wegen der Verwendung des Paraplastes und des ausgezeichneten Mikrotoms die Schnitte gleichmäßig und gut waren, ist die Paraffineinbettung nicht optimal für die quantitative Autoradiographie. Die Einbettung in Kunstharz und das Anfertigen von Semidünnschnitten, wie es Schlegel und de Zoeten (89) und in einer grundlegenden methodischen Arbeit Maurer und Primbsch (56) beschreiben, hat folgende Vorteile:

Die histologischen Bilder werden klarer.

Die Flächenschrumpfung ist für das Cytoplasma 1,33 und für den Kern 1,10 mal größer bei einem Vergleich Paraffin/Methacrylat. Dies hat zur Folge, daß die Körner auf einer kleineren Fläche erscheinen und das Zählen noch schwerer gemacht wird. Die Wahrscheinlichkeit der Koinzidenzereignisse wird größer.

Das für die Semidünnschnitte am besten geeignete Kunstharz scheint Methacrylat zu sein (44).

Der Fehler, der dadurch entsteht, daß die Strahlung die Emulsion nicht erreicht, kann auch dadurch vermindert werden, daß der Schnitt von beiden Seiten mit Emulsion beschichtet wird - ein freilich aufwendiges Verfahren (77).

3.5. Autoradiographie

3.5.1. Übersichtsliteratur

(34, 64, 71, 82, 92, 111)

3.5.2. Ausschaltung von Fehlerquellen

Grundsätzlich entspricht das autoradiographische Arbeiten dem photographischen, doch geschieht es wegen der Feinheit der Methode unter verschärften Bedingungen.

Von der Emulsion ist jegliche Energiezufuhr fernzuhalten.

Auf die Backgrounderzeugung durch Licht, mechanische Irritationen, Temperaturabweichungen und zu trockene Luft sei nicht weiter eingegangen (45).

Ausschlaggebend für den Erfolg des Versuches ist unbedingte Trockenheit während der Exposition.

Erstens werden durch Feuchtigkeit latente Bilder ausgelöscht (Fading). Die Beziehung zwischen

Radioaktivität und Kornzahl ist dann nicht mehr linear. Vor allem aber schwimmt die feuchte

Emulsion beim Entwickeln wieder ab! Die Arbeit von Wochen wird in Sekunden zunichte gemacht.

Dies erscheint mir bei kurzen Expositionszeiten als der schwerwiegendste Nachteil der Dipping-Methode.

3.5.3. Beschreibung der Technik

1. Dippen In der Dunkelkammer wurde die Emulsion Ilford K5 im Wasserbad erwärmt, mit dest. Wasser im Verhältnis 1 : 1 verdünnt und während des gesamten Vorganges auf einer Temperatur von 43°C gehalten. In diese durch vorsichtiges Umrühren homogenisierte Sauce wurden nun von Hand die auf 43°C vorgewärmten Objektträger mit einer langsamen, gleichmäßigen Bewegung eingetaucht (gedippt), dann ca. 2 Stunden zum Trocknen abgelegt, in mit Kieselgel versehene Kästchen gestellt, lichtdicht mit Photopapier eingewickelt und im Kühlschrank bei 4°C exponiert. Die Expositionszeit betrug 5 Tage.

2. Entwickeln Die Dunkelkammer sollte, alle Lösungen müssen eine Temperatur von $17 - 18^{\circ}\text{C}$ haben. Die nun völlig trockene Emulsion ist besonders lichtempfindlich. Die Objektträger wurden in gläserne Färberähmchen übertragen und wie angegeben weiterbehandelt.

1. Entwickler	6,0 min
2. dest. Wasser	0,4 min
3. Fixierbad	6,0 min
4. Fixierbad	6,0 min
5. Wässern	60,0 min

Entwickler: Kodak D 19, Ansatz nach Gebrauchsanweisung

Fixierbad : Tetenal Superfix (Berlin), 1 : 9 mit dest. Wasser

3. Bemerkung Die Zeiten für die Exposition und die Entwicklung sind jedesmal neu zu bestimmen. Die Expositionszeit vergrößert - wegen der Sättigung nur am Anfang - linear die Kornzahl; durch längeres Entwickeln wächst die Größe des einzelnen Kornes.

Die Dipping - Methode ist weit entwickelt und, wie Vergleiche mit der Stripping - Methode zeigen, in der Aussagekraft gleichwertig (66).

3.5.4. Färben und Eindecken

Die Präparate wurden mit Hämalaun - Eosin in üblicher Weise gefärbt, wobei, bedingt durch die Emulsion, mit um ca. 50% verlängerten Färbezeiten zu rechnen ist. Nach Differenzierung des Eosin wurden die Präparate über Nacht luftgetrocknet und mit Eukitt eingedeckt.

Eine ausführliche Besprechung von Färbemethoden in der Autoradiographie findet sich bei (102).

3.5.5. Mikroskopie der Autoradiogramme

Die Autoradiogramme wurden durchlichtmikroskopisch ausgewertet. Es standen dazu zur Verfügung Mikroskope mit 100 - fach vergrößernden Ölimersionen und Gesamtvergrößerungen von 1250 x und 1500 x .

Etwa 60 Kornzählungen pro Gewebetyp und Tier wurden durchgeführt. Nur solche Präparate wurden berücksichtigt, bei denen der Background ca. 2 Körner pro Zelle nicht überstieg. An markierten und willkürlich ausgewählten Zellen, deren Kerne in einem großen Durchmesser angeschnitten waren (107), wurden die Silberkörner pro Zellkern gezählt.

Die Kornzählungen sind mühsam, zeitraubend und sicher von psychischen Faktoren wie der "Tagessform" des Auswertenden abhängig. Bei verklumpten Körneraggregationen kann die Kornzahl oft nur geschätzt werden.

Verschiedene Wege wurden angegeben, die Kornzählungen zu erleichtern.

Schlegel und de Zoeten (89) mikroskopieren und photographieren mit Phasenkontrast und Grünfilter ungefärbte Präparate. Sie fokussieren auf die obere Ebene des Schnittes, so daß die biologische Struktur scharf im positiven Phasenkontrast erscheint. Die darüberliegenden Silberkörner erscheinen dann mit gleicher Schärfe im umgekehrten Kontrast. Sie leuchten hell auf dunklem Untergrund. Die Kontrastumkehr erleichtert das Zählen der Körner zur quantitativen Auswertung.

Rogers (81) empfiehlt die Dunkelfeldbeobachtung bei Auflichtbeleuchtung mit dem Leitz - Ultropak -

Illuminator, die gleichzeitig oder alternierend mit einer normalen Durchlichtbeleuchtung kombiniert werden kann. Auch hier erscheinen die Körner hell auf dunklem Grund.

Die Auflichtmikroskopie hat bei gleichem theoretischem Auflösungsvermögen eine bessere Strukturgüte (108), und es lassen sich mit ihr Silberkörner als einzelne erkennen, die im Durchlicht als Haufen zusammenliegen (20).

Das Auflicht wird auch bei der halbautomatischen Kornzählung mit dem Mikroskopphotometer verwendet (20, 21). Der apparative Aufwand ist groß, aber die Grundlagen sind abgeklärt und der Fehler liegt erwiesenermaßen unter dem von visuellen Zählungen.

Neueste Methoden deutet Hinrichsen - Tübingen in einer Diskussionsbemerkung zum Dörmer'schen Referat (21) an. Er beschreibt ein Gerät der Fa. Metals Research Ltd., Cambridge / London, das ein Monitor - Bild elektronisch auszuwerten vermag. Die Firma Reichert / Wien entwickelt zur Zeit ein ähnliches Gerät (40).

Der eindeutige Vorteil apparativer Methoden liegt darin, daß mehrere hundert Zellen am Tag absolut gleichmäßig begutachtet werden können. Deshalb sollten, wenn irgend möglich, nur noch sie bei quantitativen Untersuchungen herangezogen werden.

3.6. Bibliographische Methoden

3.6.1. Literatur - Erfassung

Neben den Zufallsfunden - die Arbeit, die die Idee zur vorliegenden Untersuchung lieferte, ist ein typischer Zufallsfund - wurden ausgewertet Aufsätze und Monographien, die über die Berichte über die wissenschaftliche Biologie ab 1964, die Berichte über Gynäkologie und Geburtshilfe ab 1968 (beide Springer - verlag) und die Excerpta medica Sec -

tion Anatomie ab 1965 gefunden wurden. Die Referatenorgane wurden über die Stichworte Autoradiographie, Mammalia, Nukleinsäuren, Placenta und Uterus ihrer Register durchsucht.

Daneben habe ich jeweils die letzten Jahrgänge von etwa 10 anatomisch-histologischen Zeitschriften durchgesehen.

3.6.2. Kritik

Raettig schreibt im Vorwort zu einer Zusammenstellung der in den letzten Jahren erschienenen Bakteriophagenliteratur (79), daß nur 65,8% der von ihm gefundenen Stellen in zusammen drei Referatenorganen (Berichte, Excerpta medica, Zentralblatt) verzeichnet waren. Mit einem Organ allein werden 23-33% der Arbeiten erreicht. Bei Benutzung des Registers sinkt die Quote auf 20%, da die Register meist nur auf einer Titelauswertung beruhen. Nur in Paranthese möge allerdings hier auch gesagt sein, daß ein Vergleich der Register der Excerpta medica und der Berichte zeigt, wie ein Register sein kann und wie es nicht sein sollte. Optimal sind sie beide nicht. Die Referatenorgane arbeiten mit Verzögerungen von etwa 9-15 Monaten, die Registerbände der Berichte erscheinen noch einmal 10 Monate nach den Heften selbst.

Kutzner (47) sieht die Zukunft der Literaturauswertung und Dokumentation in der elektronischen Datenverarbeitung.

Es gibt erstens in Köln das Deutsche Institut für medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) im Geschäftsbereich des Bundesministers für Gesundheit, das dem Medical Literature Analysis and Retrieval System (Medlars) angeschlossen ist.

Dieses System wertet 2700 Zeitschriften aus und speichert von jeder Publikation Titel, bibliographische Daten und eine Reihe von Stichwörtern in Computern. Seit 1964 wurden über 1 000 000 Zitate gesammelt (18).

Es gibt zweitens einen Schriftwechsel zwischen dem DIMDI und mir, der am 10. 3. 1970 begann, der im November den print out in Aussicht stellte, welcher letzter aber heute am 16. 12. 1970 noch nicht eingetroffen ist.

Es gibt drittens nur den Schluß, daß Forschung, die mit der Produktion von Bomben im weitesten Sinne nichts zu tun hat, die also nicht in der Interessenssphäre der Herrschenden liegt, zwangsweise gekoppelt ist mit einem schlechten Gewissen des Forschenden, was die Gültigkeit und den Wert des Ausgesagten betrifft.

3.7. Statistische Methodik

3.7.1. Übersichtsliteratur

(10, 76, 86)

3.7.2. Bearbeitung der gewonnenen Zahlen

Wie eingangs erwähnt, kann diese Arbeit nur dazu dienen, die Brauchbarkeit der Methode zu überprüfen. Es lagen bedingt durch die geringe Zahl von Versuchstieren ja keine von unterschiedlichen biologischen Individuen gewonnenen Werte vor, aus denen ein mittlerer Wert hätte gebildet werden können.

Wie aus einer Arbeit von Koburg und Maurer (42) bekannt ist, gehören Kornzahlenkollektive aus mit ^3H -Thymidin behandelten Geweben Poisson-Verteilungen an, die sich bei großen Stichprobenumfängen Normalverteilungen nähern. Dies wurde nicht erneut überprüft, ist aber wichtig

zu wissen, da die meisten statistischen Testverfahren für Normalverteilungen entwickelt worden sind, Poissonverteilungen dagegen mit verteilungsunabhängigen Verfahren bearbeitet werden müssen. Für ein zu forderndes großes Zahlenmaterial hieße das, daß die Ergebnisse eines Gestationstages beispielsweise mit einem Rangtest nach Wilcoxon, der Verlauf der Ergebnisse während der Schwangerschaft mit einer Varianzanalyse zu überprüfen wären.

Das Zahlenmaterial umfaßte jeweils etwa 60 Werte pro Gewebetyp eines jeden Tieres. Dies wurde in einen Rechner eingegeben. Es folgt zunächst das Programm des Diehl - Combitron Rechners in Maschinensprache:

```

                                0,0 0 0 0
                                0,0 0 0 0
3 6 4 4 0 4 8 9 2 1 2 0 3 5 2 P x 0
1 5 4 0 1 4 7 4 4 7 8,6 1 7 6 P x 1
1 5 5 3 4 1 6 1 8 6 7 5 7 1 2 P x 2
4 0 1 4 0 3 7 3 3 3 3,6 2 0 8 P x 3
1 8 8 0 9 8 7 1 2 7 1,6 6 4 5 P x 4
3 8 9 7 2 3 4 3 5 8 7 9 7 8 9 P x 5
5 7 3 2 6 9 9 3 6 7 6 0 9 0 3 P x 6
3 9 7 1 6 9 1 3 0 5 7 6 6 4 P x 7
                                1,0 0 0 0 x 9

```

Folgende Werte wurden daraufhin ausgedruckt:

1. Zahl der Einzelwerte
2. Summe der Einzelwerte
3. Arithmetisches Mittel
4. Summe der Quadrate der Einzelwerte
5. Rechenglied (Quadrat der Summe der Einzelwerte dividiert durch die Zahl der Beobachtungen.)
6. Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert
7. Varianz
8. Standardabweichung
9. Standardfehler des Mittelwertes

Die Werte wurden nun graphisch verarbeitet. Die Abbildungen 3,4,5 im Kapitel 8. sollen den methodischen Fehler demonstrieren. Für jeden Gewebetyp wurde ein Diagramm gezeichnet, dessen Abszisse die Werte der Mittelwerte trug, die Ordinate aber die Werte der Standardabweichungen. Beide Achsen waren linear gegliedert.

Die Werte sollten idealer Weise auf einer Geraden liegen. Für einen größeren Umfang an Beobachtungen wird diese Beziehung deutlicher.

In einer zweiten Darstellung (Abb. 2) wurden die Mittelwerte der Gewebetypen eines Tieres übereinander, die Tiere selbst der Gestationsdauer entsprechend nebeneinander aufgetragen. Um einen besseren Vergleich der Werte zu ermöglichen, habe ich die Mittelwerte der Uteri mit 100 angenommen und die übrigen zugehörigen Werte entsprechend multipliziert. Dieses Verfahren ist statistisch zulässig (26) . Um die Mittelwerte habe ich einen Bereich angege-

ben, der der zweifache Wert des Standardfehlers des Mittelwertes ist. Dies ist der Bereich der Vertrauenswahrscheinlichkeit. Es gilt, daß in etwa 95 von 100 Fällen Mittelwerte, die durch das gleiche Verfahren gewonnen werden, bei Konstanz aller Bedingungen in diesen Bereich fallen. Wenn sich andererseits die Bereiche nicht überschneiden, kann gesagt werden, daß mit der gleichen Wahrscheinlichkeit die Werte aus verschiedenen Grundgesamtheiten stammen.

4. Histologie der untersuchten Gewebe

4.1. Gewebeauswahl

Die Auswahl der Gewebe war vom vorliegenden Material begrenzt, da nur noch die Uteri der Muttertiere, sowie die Placenten (meist mit Eihäuten) und die Embryonen zur Verfügung standen. Von den älteren Embryonen wiederum lagen nur noch die Köpfe vor, so daß zur Auswahl standen vom mütterlichen Gewebe erstens die Muskulatur der Uteri, die aber wegen der geringen Teilungsrates ihrer Zellen nicht in Frage kam, zweitens deren Schleimhäute.

Embryonale Gewebe, die in fast allen Präparaten zu sehen waren, sind die basalen Zellen der Haut und die knorpeligen Anlagen des Skeletts gewesen. Nur beim jüngsten Embryo (12. Tag) konnte kein Knorpel ausgemacht werden.

Anfangs war vorgesehen, als Typus des embryonalen Gewebes auch die Placenta zu verwenden. Die lichtmikroskopische Morphologie ist jedoch so unübersichtlich, daß bald davon abgegangen wurde. Andere Untersucher (60) wiesen darauf hin, daß die Zellen der Placenta von den mütterlichen Blutzellen nicht sicher zu unterscheiden sind. Zudem ist die Placenta ein Teil der postulierten Schranke und darf auch deshalb nicht als Modellgewebe in Betracht kommen. Aus dem gleichen Grund wurden auch die markierten Zellkerne in den oft gesehenen Eihäuten nicht ausgewertet. Die Blutversorgung der Eihäute ist zwar bekannt, die Dynamik der Strömungen aber nicht geklärt (Lemtis, 54). Diese hat aber sicher einen erheblichen Einfluß auf die Markierungsrate.

So ist es im Modellversuch vorstellbar, daß ein Gewebe durch Diffusion ausreichend mit einem Stoff versorgt wird, daß aber die Diffusionszeit zu lang ist, als daß bei begrenzter Versuchsdauer ein von außen zugegebener Stoff überhaupt an die Stelle gelangt, an der nach ihm gesucht wird.

Atlas et al. (5) wiesen darauf hin, daß die Entwicklung der embryonalen Blutzirkulation ein wichtiger Faktor der DNS-Markierung sein könnte. Herzaktionen und ein funktionierendes Kreislaufsystem sind am 10. Tag der Rattenschwangerschaft zu erwarten. Die Herzhöhlen weiten sich zu diesem Zeitpunkt und in den Kammerwänden sind Myofibrille und Mitochondrien zu beobachten. (68).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß nur an solchen Gewebetypen eine Kornzählung vorgenommen werden sollte, die lichtmikroskopisch einwandfrei zu erkennen und abzugrenzen sind, deren morphologische Einheitlichkeit möglichst bewiesen ist und deren Funktion während der Schwangerschaft aufgeklärt sein sollte.

4.2 Uterusschleimhaut

4.2.1. Histologie

Die Uterusschleimhaut zeigt wie vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen des Endometriums auch in verschiedenen Funktionszuständen bewiesen, weitgehende Übereinstimmung bei Nagetier und Mensch (65), so daß Befunde aus der Menschenhistologie zur Beschreibung herangezogen werden dürfen.

Es wurde Teile des Uterus mikroskopiert, die mit Sicherheit nicht durch die unmittelbare

der Implantationsstelle beeinflusst sein konnten. Die Schleimhaut des Uterus wird durch die Schwangerschaft kaum verändert und vor allem die Drüsengrundri behalten bis zur Geburt ihr zylindrisches Epithel (90) .

Elektronenmikroskopische Befunde des Rattenuterus vom 13. Schwangerschaftstag bei (6) .

4.2.2. Funktionszustand

Vor allem im Hinblick auf die Rolle, die die Uterusschleimhaut beim paraplazentaren Austausch spielt, ist es nötig auf die Funktionstüchtigkeit ihrer Zellen einzugehen.

Hierzu wird von Petry (72 , 73) betont, der sich auf eigene und fremde Untersuchungen stützt (70), daß die Decidua parietalis ein gut durchblutetes Gewebe ist, dessen Zellen mit allen Zeichen einer zytoplasmatischen Aktivität versehen sind.

4.3. Embryonaler Knorpel

Es wurden zur Untersuchung die knorpeligen Anlagen des Kopfskeletts herangezogen. Beim Embryo der Ratte vom 12. Schwangerschaftstag fanden sich keine Knorpelzellen.

4.4. Embryonale Haut

Die Epidermis dichtbehaarter Säugetiere setzt sich im Gegensatz zu der des Menschen aus nur wenigen Lagen zusammen (38) . Das Stratum germinativum besteht aus 1-2 Zellschichten, wobei bezweifelt wird, ob alle Zellen der basalen Lage auch wirklich Basalzellen sind. Nach Hanson (32, 33), die die Entwicklung bei Ratte und Maus untersucht hat, unterscheiden sich die Zellen des Stratum basale von denen des Stratum spinosum durch geringeren Zyto -

plasmareichhalt, die unscharfe Zellbegrenzung und durch die weniger deutlichen Tonofibrillen der Basalzellen.

Das Stratum basale bildet während der Fetogenese eine geschlossene Schicht, die erst nach der Geburt teilweise zurückgebildet wird. (19, 101).

5. Bau und Funktion der materno - fetalen Übertritts - organe

5.1. Einleitung

Die materno - fetalen Übertrittsorgane stellen ein System von biologischen Membranen im weitesten Sinne dar.

Einen essentiellen Hinweis hierzu gibt Cervos - Navarro (11) in einer Arbeit über die Blut - Hirn - Schranke. Er weist darauf hin, daß Wand - strukturen (dort Endothelien) nicht Ursache, sondern morphologischer Ausdruck der Permeabilitätsunterschiede sind . Und schreibt weiter: "Das funktionelle Verhalten der Capillaren eines Organs hängt immer von regulierenden Momenten seitens des Parenchyms ab." (Im Original kursiv.)

Das Parenchym ist im vorliegenden Fall der Embryo, der in jeder Phase seiner Entwicklung einen spezifischen Stoffbedarf hat. Der Übertritt von Stoffen richtet sich nach diesen Bedürfnissen. Es wäre deshalb verkürzt, wenn gesagt würde, daß in dieser Arbeit die Placenta - "schranke" untersucht würde, zumal die Methode keinerlei Hinweis gibt, welchen Weg das vom Embryo inkorporierte Thymidin genommen hat.

Osterhage schrieb 1931 (69) :

"Denn trotz der nahen Verwandtschaft vieler Nager zeigen sich doch so viele Unterschiede in der Anlage und im Bau der Placenta und besonders in der Ausbildung und Differenzierung des Dottersackes, daß eine Untersuchung einer jeden einzelnen Art für die Entscheidung einer solchen Frage am Platze ist." (Die Frage, der Osterhage nachging, war die nach dem Bürstenbesatz

an den Epithelzellen des viszeralen Dottersack - blattes.)

Die großen Unterschiede des Placentabaues werden auch von Starck (98) und Grosser (31) ausdrücklich betont.

Diese Erwähnungen sollen dazu dienen klar zu machen, daß die Ergebnisse der an Ratten ausgeführten Untersuchungen auf keinen Fall auf irgendein anderes Tier übertragbar sind, natürlich auch nicht auf den Menschen, auch wenn sich auf ihn beziehende Fragen besonders wichtig erscheinen und Antworten dringend gesucht werden.

5.2. Topographie

Die Implantation bei der Ratte erfolgt antimesometral (30) in einer seitlichen Ausstülpung (99) des Uterus duplex (97). Diese Ausstülpung wird im Laufe der Schwangerschaft gegen das übrige Uteruslumen abgeschlossen.

5.3. Bau der Eihäute

Mayersbach (57) : "Bei der Ratte werden die Fruchthüllen durch die den Muriden eigentümliche "Keimblattumkehr" von dem nur kurze Zeit bestehenden parietalen Ektoderm, der Reichertschen Membran, dem parietalen und viszeralen Dotterblatt gebildet. Nach Rekonstitution des Uterusepithels, Schwund der Reichertschen Membran und des parietalen Dotterblattes im antimesometrialen, paraplazentaren Anteil besteht der Fruchtsack im letzten Drittel der Tragzeit nur mehr aus dem viszeralen Dottersack."

Die Amnionhöhle wird von der Uterusschleimhaut nun durch folgende Schichten getrennt (Abb. 1):

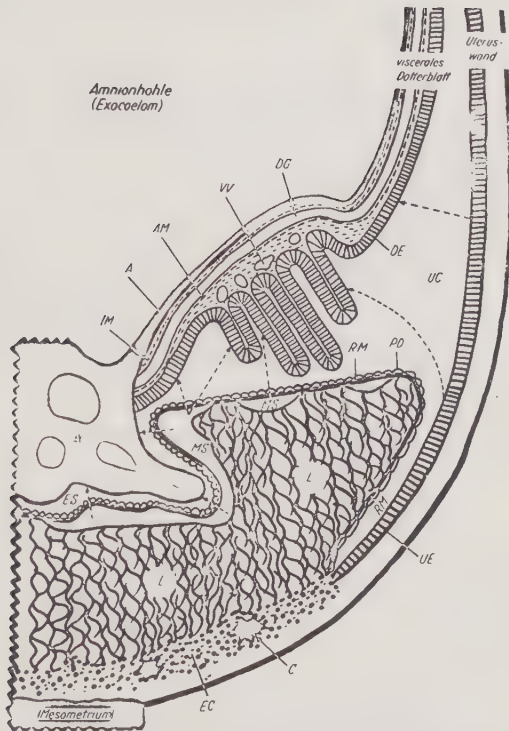


Abb. 1. Schematische Darstellung der Eihaut-Plazenta-Verhältnisse bei der Ratte im letzten Schwangerschaftsdrittel. A Amnionbindegewebe, Amnionhöhle (Exocoelom) auskleidend; AL Allantoisgefäß mit umgebenden Bindegewebe; AM äußere Mesothellage des viszeralen Dottersackes; IM innere Mesothellage des viszeralen Dottersackes; DE Dottersackepithel; DG Dottersackgrundhaut; C Chorion im placentaren Unterbau; EC Ektoplazenta (Unterbau); ES Entodermsinus; L Plazentalabyrinth; MS mütterliche Arterionsinus; PD parietales Dottersackepithel; RM Reichert'sche Membran; UC Uteruskavum; UE Uterusepithel; VT Dottersackgefäße; -----> Weg der Serumproteine

Aus Mayersbach (57).

1. Schleimhaut des Uterus (Vergl. Kapitel 4.2.)
2. Uterushöhle Sie ist rückgebildet bis zum kapillären Spalt.
3. Dottersackepithel Der placentanahe Abschnitt des Dottersackes ist durch Leisten und zottenartige Erhebungen profiliert, der periphere Abschnitt ist glatt.
Die Dottersackepithelzelle des Kaninchens zeigt auffallende Ähnlichkeit zu dessen Dünndarmepithelzelle. Ein materno-fetaler Transport von Eiweiß, der seinen morphologischen Ausdruck in zahlreichen Vakuolen findet, wird angenommen (75).
4. Basalmembran Diese Basalmembran stellt beim Meerschweinchen und Kaninchen (Untersuchungen an Ratten sind mir nicht bekannt) eine biologische Rarität dar. Sie ist 1,5 - 3,0 μm ! dick und besteht aus 8 (Meerschweinchen) - 15 (Kaninchen) parallel verlaufenden osmophilten Lamellen, die aus feinen Körnchen und Filamenten bestehen (74 , 75).
5. Bindegewebsschicht mit Gefäßen
6. Äußere Mesothellage des viszeralen Dotterblattes.
7. Dottersackgrundhaut
8. Innere Mesothellage des viszeralen Dotterblattes.
9. Amnionbindegewebe
10. Amnionepithel (46)

5.4. Funktion der Eihäute

Schon Grosser wies 1909 (30) auf die Bedeutung der paraplacentaren Übertragung hin, da seiner Meinung nach die Geschwindigkeit des Blutstromes im Placentalabyrinth zu groß sei, um am Ende der Schwangerschaft den Stoffbedarf des Embryos zu decken. Ähnliche Vorstellungen finden sich bei Bhargava und Raja (7) . Eine plausible physiologische Erklärung ist mir nicht bekannt. Mayersbach (57) hat nachgewiesen, daß durch die Eihäute der Ratte im letzten Drittel der Gestation Serumproteine vom Muttertier zum Fetus transportiert werden, wobei die Placenta als Transportorgan ausgeschlossen wurde. Der Transport von niedermolekularen Stoffen ist deshalb sehr wahrscheinlich.

5.5. Histologie der Placenta

5.5.1. Lichtmikroskopische Befunde

Die Ansichten über die Histologie der Rattenplacenta gehen in den Lehrbüchern weit auseinander.

Die Lehrbuchautoren Zietzschmann und Krölling (110), Clara (13), und Grosser (30) bezeichnen die Rattenplacenta als Placenta haemo-endothelialis; das ist ein Placentatyp, der die am weitesten fortgeschrittene Reduzierung der Trennschichten, die denkbar ist ohne das Prinzip der Placenta zu verletzen, darstellt.

Clara schreibt dazu :

"Die Placenta discoidalis von Ratte, Maus, Meerschweinchen und Kaninchen ist ihrem Bau nach als Placenta haemo-endothelialis zu charakterisieren; in der voll entwickelten Plazenta drängen sich

nämlich die fetalen Blutkapillaren durch den Trophoblast und ragen daher in die mütterlichen Bluträume, so daß die fetale Kapillarmwand die einzige Trennungswand zwischen beiden Kreislaufsystemen bildet."

Diese Vorstellungen gehen auf Grosser zurück.

Die Placenta der Spitzmaus stellt unter den Nagern eine Ausnahme dar. Sie ist eine Placenta endothelio-endothelialis, bei der die Trophoblastenschicht fehlt (63).

Siewing (95) und Rosenbauer (84) ordnen die Rattenplacenta dem Typus der Placenta haemochorialis zu, und Franke nennt in seiner großen Monographie (25) auf Grund elektronenmikroskopischer Untersuchungen als Typ die Placenta haemochorialis, allantoide Form.

Es folgt eine Übersicht über seine Ergebnisse, die deshalb gerechtfertigt erscheint, weil auch meine Untersuchung keine Momentaufnahme eines Zustandes ist, sondern einen Verlauf beschreibt.

5.5.2. Elektronenmikroskopische Befunde

12. Tag Das Placentarlabyrinth besteht aus einer gut abgegrenzten parenchymatösen Zellschicht, die sich aus größeren Trophoblastzellinseln und -strängen zusammensetzt, zwischen denen das mütterliche Blut fließt. Alle Zellen der Labyrinthanlage sind reich an Polysomen, aber arm an Membranen des endoplasmatischen Reticulums. Auch Golgi-Apparate sind spärlich. Das Labyrinth enthält weder Syncytium noch Plasmodien. Der Interzellularraum zwischen Endothel und Trophoblastzellen ist unterschiedlich breit.

13. Tag Das Placentarlabyrinth hat seine Größe

verdoppelt. Es ist eine starke Längsstreckung der Trophoblastzellen zu beobachten. Sie besitzen lange Zellausläufer, die sich überlagern können. An solchen Stellen ist die Trophoblastzelllage zwischen fetalem und mütterlichem Blut schmal und in der Regel dreischichtig. Riesenzellen treten auf. Sanfilippo (88) teilt diese ein in große und kleine, von denen die größeren nie direkten Kontakt mit den mütterlichen Bluträumen haben. Sie besitzen große, stark gelappte Zellkerne mit zytoplasmatischen Einschlüssen. Die kleineren Riesenzellen besitzen zahlreiche lange, zytoplasmatische Fortsätze, mit welchen sie einen Teil der Auskleidung der mütterlichen Blutlakunen bilden.

14. Tag Die Allantoiszellen differenzieren in Blutgefäße. Die Trophoblastzellschichten zeigen zu diesem Zeitpunkt feinstrukturelle Unterschiede. Schicht 1 (außen) ist ribosomenreich, wenig elektronendicht und arm an Membranen des ER. Die Zellen der Schichten 2 und 3 sind im Gegensatz dazu sehr elektronendicht und enthalten viele Vesikel.

17. Tag Das Labyrinth besteht nur noch aus Labyrinthbalkchen. Zu diesem Zeitpunkt hat sich auch die Feinstruktur in den 3 trophoblastischen Wandschichten teilweise verändert. In der ribosomenreichen Schicht 1 hat die Ausbildung eines ER begonnen. In der Schicht 2 wurden Lysosomen beobachtet.

Eine ausführliche Übersicht über die vergleichende Placentanatomie findet sich bei Wimsatt (109)

5.6. Funktion der Placenta

Es kann hier kein Überblick über die Leistungen der Placenta gegeben werden. Nachdem ich gezeigt habe, welche paraplacentaren Transportmechanismen bestehen und wie sehr sich die Morphologie der Placenta selbst ändert, will ich nur kurz erwähnen, welche auffälligen Unterschiede der Funktion in Bezug auf die des Menschen (als dem Mittelpunkt medizinischer Betrachtungen) beschrieben worden sind, und welche weiteren Untersuchungen zum Thema der Arbeit, der Veränderung des Durchtritts im Laufe der Schwangerschaft, vorliegen.

Die Placenta der beiden Nager Maus und Ratte scheint insgesamt weniger durchlässig zu sein als die des Menschen, denn während bei dieser bewiesen ist, daß Proteine, Viren und auch Erythrozyten (55) die Placenta durchwandern, wurde für jene gezeigt, daß sie bei der Maus eine sichere Schranke für Serumproteine (41), für Erythrozyten (23) und andere Zellen der Mutter ist (8). Auch bei der Ratte bildet sie eine Barriere für Proteine (57).

Es ist also gerade umgekehrt wie beim Menschen, bei dem der Proteintransport durch die Placenta angenommen, durch die Eihäute aber verneint wird (15).

Für die Placenta des Meerschweinchens wurde gezeigt, daß sie einen Konzentrationsunterschied für Bakteriophagen von $10^5 - 10^6 : 1$ aufrecht zu halten vermag, wobei immunologische Vorgänge angenommen werden (105). Beim gleichen Tier ist bekannt, daß eine nicht metabolisierbare Aminosäure (AJB ^{14}C) in beiden Richtungen transpor-

tiert wird, daß weiter der Übertritt in Richtung Mutter - Fet deutlich schneller erfolgt (16). Die Placenta ist nicht als tote Membran aufzufassen, sondern sie ist, wie Untersuchungen beim Menschen ergaben, zum aktiven Transport fähig. Dort z. B. ist die Vitamin - C - Konzentration beim Fetus höher als bei der Mutter (37).

Zwei Arbeiten ließen sich nachweisen, die die Veränderungen des Stofftransportes während der Schwangerschaft beschreiben.

Es wurde gefunden, daß beim Meerschweinchen, das eine Tragdauer von ca. 70 Tagen hat (100), der Calciumübertritt bis zum 55. Tag 6,1 mg pro Fet und Tag beträgt, danach 9,8 mg (104). Glasser (28) untersuchte den Eisentransport bei der schwangeren Ratte und zeigte, daß er proportional zur Blutbildung durch die fetale Leber anwächst. Er hat am 20. Gestationstag den 100 - fachen Wert vom 12.

Beides gute Beispiele zur Belegung der Cervos - Navarro'schen These.

Eine letzte Arbeit existiert, die den transplacentaren Transport für Nucleotide, Nucleoside und Basen untersucht (36). Hayashi und Garvey nennen den Transport "transplacental", doch es wird bei ihrer Versuchsanordnung nicht klar welchen Weg die von ihnen untersuchten Stoffe genommen haben. Sie spritzten Rattenweibchen in den letzten Tagen der Schwangerschaft ^{14}C -markierte Stoffe und prüften an Homogenaten die Strahlung mit Geigerzählern. Sie fanden, daß das markierte Thymidin in der ersten Stunde übertritt.

Solche Untersuchungen sind von zweifelhaftem Wert, da es sich um Versuche mit biochemisch hergestellten Fraktionen des gesamten Embryos handelt, die über die Aufnahme in die einzelne Zelle nichts aussagen können.

Experimente an größeren Tieren, bei denen zur gleichen Zeit Blutproben von Mutter und Fetus entnommen wurden, liegen meines Wissens nicht vor; Techniken indes sind entwickelt (85).

Ähnliche Untersuchungen an Ratten scheitern bislang an der Kleinheit des Objektes (29).

Es darf behauptet werden, daß die Methode, die mir zugewiesen wurde, ein gutes Bild der Eintrittsbedingungen geben kann.

6. Ergebnisse

6.1. Beschreibende Statistik

Im Kapitel 8. sind die Werte zu finden, auf die ich mich im folgenden beziehe.

Die von mir beobachteten Kornzahlen / Zellkern lagen im Bereich von 3 - 65. Sie ließen sich mit dem Lichtmikroskop gut, aber nicht optimal zählen, da die Korngröße nicht immer wünschenswert klein war.

Die Kornzahlen der Uterusschleimhaut waren am größten. Beim Embryo waren die Kornzahlen der Knorpelzellen immer höher als die der Basalzellen der Haut.

Die starke Streuung der Mittelwerte im Verhältnis zur Dosierung fällt auf.

Ratte 6 (14. Tag)
Dosis 8 $\mu\text{Ci/g}$
Uteruskornzahl 47, 8

Ratte 14 (18. Tag)
Dosis 5 $\mu\text{Ci/g}$
Uteruskornzahl 41, 0

Ratte 15 (18. Tag)
Dosis 2 $\mu\text{Ci/g}$
Uteruskornzahl 20, 8

Ratte 8 (15. Tag)
Dosis 5 $\mu\text{Ci/g}$
Uteruskornzahl 19, 5

Es ist also nicht so, daß mit steigenden Dosierungen auch die Kornzahlen immer nennenswert angestiegen sind.

Die Punkte in den Abbildungen 3,4,5 (pg. 47 - 49) liegen mit nicht sehr guter Näherung an einer Geraden, am besten noch bei den Knorpelzellen. Die Bedeutung dieser Abbildungen ist in Kapitel 3.7.2. erläutert worden.

Auf den beiden nächsten Seiten sind die auf eine Uteruskornzahl / Kern von 100 bezogenen Zählergebnisse in Tabelle und Abbildung übersichtlich zusammengefaßt.

Tabelle 2

Zusammenfassung der Ergebnisse

Tag der Gestation	Kornzahlen / Kern Uterus - Knorpel - Haut			Dosis ^3H -Thymidin/ g Körpergewicht
12	100	-	/ - 25	5 μCi / g
14	100	-	58 - 32	8 μCi / g
15	100	-	48 - 29	5 μCi / g
16	100	-	45 - 28	5 μCi / g
17	100	-	35 - 23	5 μCi / g
18	100	-	48 - 29	2 μCi / g
18	100	-	41 - 29	5 μCi / g
19	100	-	42 - 42	5 μCi / g
20	100	-	60 - 35	5 μCi / g

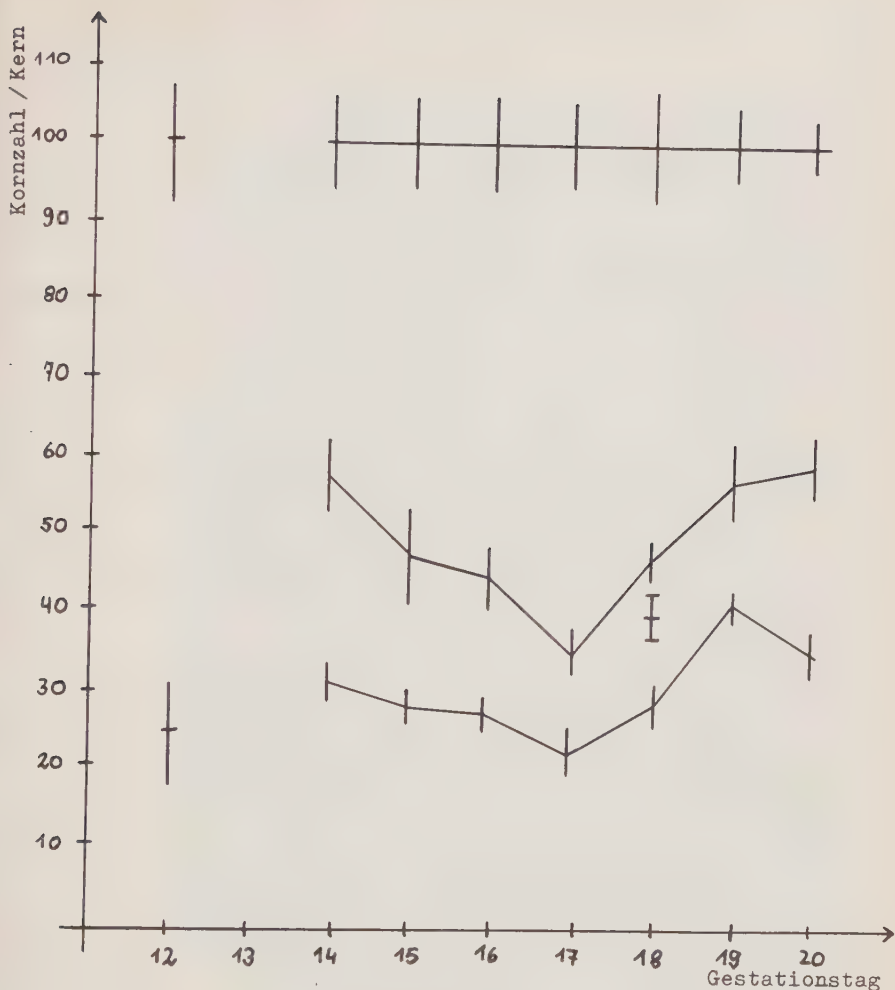


Abb. 2 Oben: Kornzahlen/Kern der Uterusschleimhaut
 Mitte: Kornzahlen/Kern der Knorpelzellen (Embryo)
 Unten: Kornzahlen/Kern der Basalzellen der Haut (Embryo)
 Die Grenzen der Vertrauenswahrscheinlichkeit wurden durch die senkrechten Striche angegeben.
 Alle Werte wurden auf einen angenommenen Uteruswert von 100 bezogen.

I : Ergebnisse der Ratte vom 18. Tag mit 5 μ Ci / g

6.2. Folgerungen

Wegener et al. (107) fanden im Knorpelzellkern doppelt soviel Körner wie in den Basalzellen der Haut . Bei mir beträgt der Faktor etwa 1,6.

Nach denselben Autoren ist die Kornzahl pro Kern bei den fetalen Zellarten etwa 8mal kleiner als bei den Zellarten des mütterlichen Organismus. Ich fand Kornzahlverhältnisse, die im Embryo bis 4mal kleinere Werte zeigten.

Am 17. Gestationstag, in der Mitte des letzten Drittels der Schwangerschaft der Ratte, scheint der maternofetale Übertritt von Thymidin im Vergleich zu den Eckpunkten dieses Zeitraumes vermindert zu sein. Dieses Ergebnis widerspricht dem von Wegener et al.

Die Arbeit hätte ein weiteres wichtiges Ergebnis haben können. Es ist zu erwarten, daß die Größe der Kornzahl in Zellen eines Gewebetyps umgekehrt proportional zu dessen S - Phasen - Dauer ist. Für den erwachsenen Organismus ist dies bewiesen. Folglich wäre vorstellbar, daß man im Embryo von einer Zellart die S - Phasen - Dauer und die Kornzahl bestimmt und durch Kornzahlungen schnell die S - Phasen sämtlicher anderen Zellen ermittelt.

Da die S - Phasen der von mir untersuchten Zellarten bestimmt sind, hatten über den eben gezeigten Weg die beiden am Embryo erhaltenen Werte gut überprüft werden können. Die S - Phase bei den embryonalen Hautzellen beträgt ca. 5,5 Std., die der Knorpelzellen aber 7,3 Std. (Methode der markierten Mitosen) oder 3,0 Std. (Doppelmarkierung). Der Weg war also versperrt.

Die Untersuchungen Wegener's et al. ergaben schließlich, daß die Natur diesem Denkmodell nicht

folgt, ohne daß die Gründe bekannt sind. Bei verschiedenen embryonalen Zelltypen mit gleicher S-Phasendauer fanden sie unterschiedliche mittlere Kornzahlen/Kern.

Die Gründe für die starke Schwankung der Mittelwerte beim gleichen Gewebetyp und gleicher Dosierung (Uterusschleimhaut!) sind nicht bekannt.

6.3. Kritik

Die Gründe der unterschiedlichen Ergebnisse von Wegener et al. und mir sind nicht bekannt. Die untersuchten Kollektive sind zu klein, als daß Vermutungen am Platze wären.

Nachdem die methodischen und biologischen Voraussetzungen nun klarer sind, kann gefordert werden, daß die Untersuchung an einer großen Anzahl von Tieren wiederholt werden sollte. Es sollten zur Erzielung klarerer Bilder nach Möglichkeit Semidünnschnitte (62) angefertigt werden. Die quantitative Auswertung sollte unbedingt an einer großen Anzahl von Zellen mit einer elektronischen Apparatur vorgenommen werden.

Diese Arbeit ist der schriftliche Ausdruck der ersten wissenschaftlichen Bemühungen eines Studierenden. Nicht mehr.

7. Zusammenfassung

Einem Literaturhinweis, dem zu Folge mit quantitativ autoradiographischen Untersuchungen festgestellt wurde, daß bei der Ratte die Kornzahl / Kern bei den fetalen Zellen relativ zum Muttertier am 17. Tag der Schwangerschaft 1,5mal größer als am 20. Tag sein soll, wurde an einem größeren Kollektiv von Versuchstieren mit der gleichen Versuchsanordnung nachgegangen.

9 schwangere Ratten von 8 verschiedenen Tagen der zweiten Schwangerschaftshälfte wurden mit ^3H -Thymidin behandelt und es wurden autoradiographisch-histologische Präparate vom Uterus des Muttertieres und von den Embryonen angefertigt. Die Uterusschleimhaut der Mutter und der Knorpel und die basalen Zellen der Haut des Embryos wurden quantitativ durch Kornzahlungen ausgewertet.

Die Kornzahlen im Uterus waren am größten. Beim Embryo waren die Kornzahlen im Knorpel höher als in der Haut.

In der Mitte des letzten Drittels der Schwangerschaft (17. Gestationstag) scheint der materno-fetale Übertritt im Vergleich zu den Eckpunkten dieses Zeitraumes vermindert.

Wegen der geringen Zahl von Versuchstieren wird vorgeschlagen, den Versuch mit modifizierten Methoden in größerem Maßstab zu wiederholen. Die methodischen und biologischen Voraussetzungen werden in der Arbeit ausführlich diskutiert.

8. Tabellen und Abbildungen

Es folgen die Abbildungen 3,4,5 und die Originalausdrucke des Rechners entsprechend den Angaben in Kapitel 3.7.2.

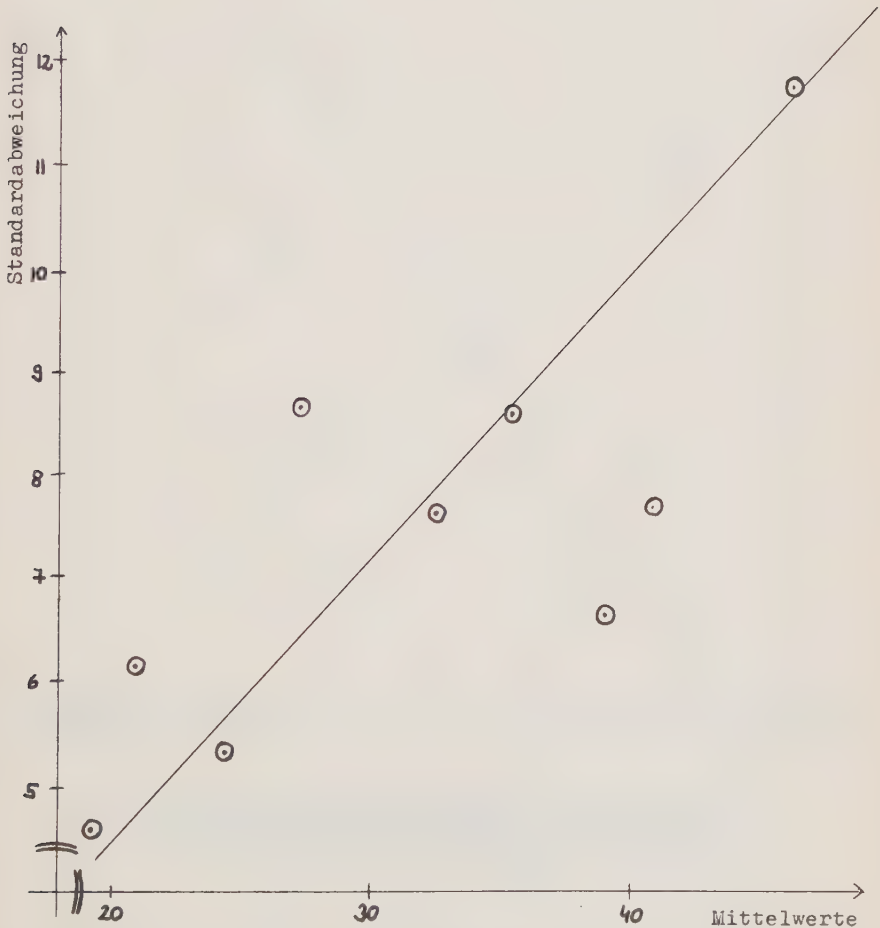


Abb. 3 Standardabweichungen der Kornzahlen / Kern der Uterusschleimhaut aufgetragen über den zugehörigen Mittelwerten.

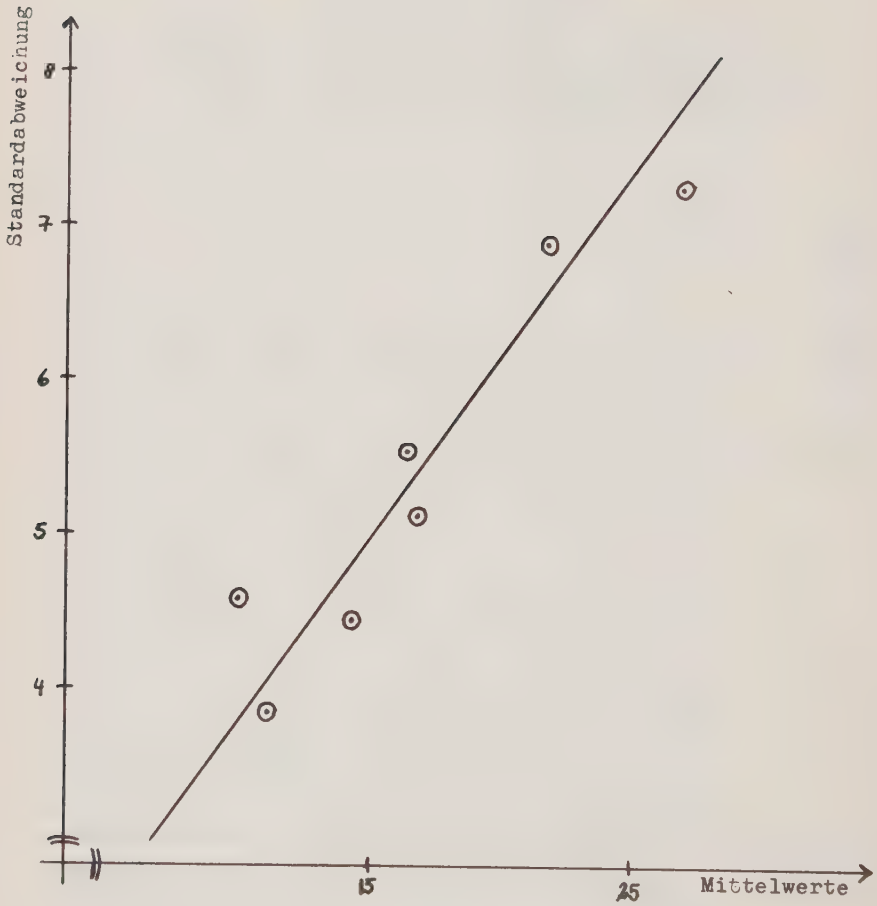


Abb. 4 Standardabweichung der Kornzahlen / Kern der embryonalen Knorpelzellen aufgetragen über den zugehörigen Mittelwerten.

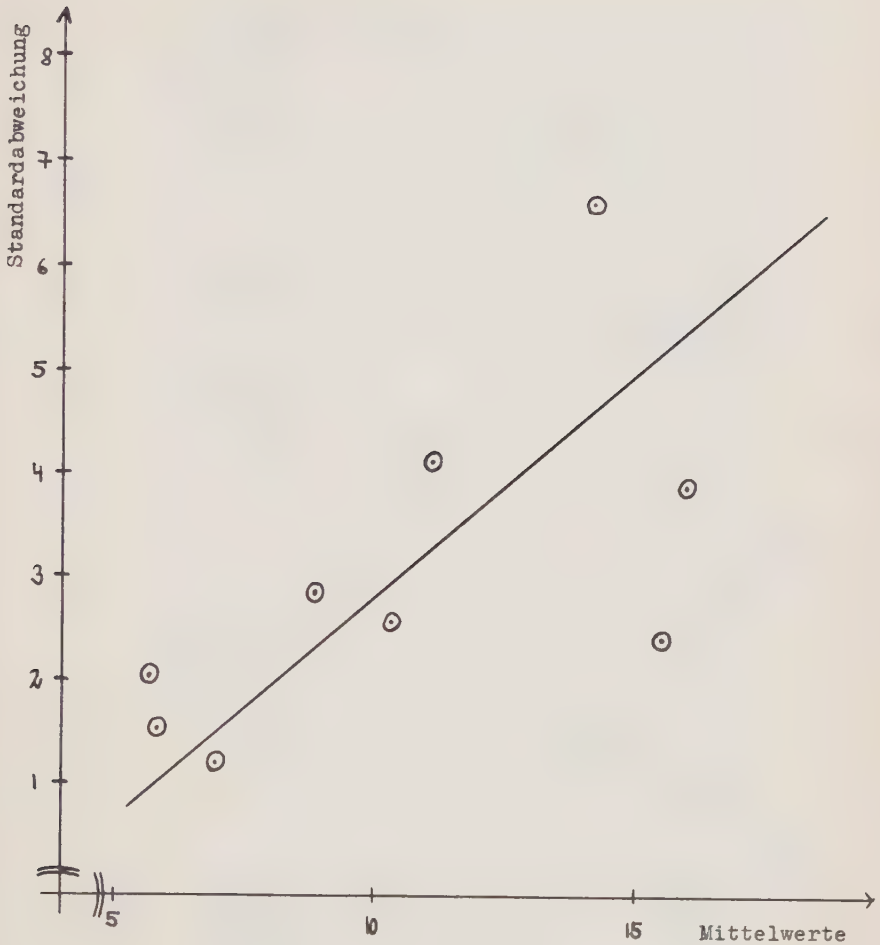


Abb. 5 Standardabweichungen der Kornzahlen / Kern der embryonalen Basalzellen der Haut aufgetragen über den zugehörigen Mittelwerten.

6 0,0 0
 1 1 6 8,0 0
 1 9,4 6
 2 3 9 8,2 0
 2 2 7 3 7,0 6
 1 2 4 4,9 3
 2 1,1 0
 4,5 9
 0,5 9

Uterus

R 8
 15. Tag
 5 μ Ci / g

6 0,0 0
 5 9 5,0 0
 9,9 1
 7 1 3 5,0 0
 5 9 0 0,4 3
 1 2 3 4,5 6
 2 0,9 2
 4,5 7
 0,5 9

Knorpel

6 0,0 0
 3 4 7,0 0
 5,7 8
 2 2 8 9,0 0
 2 0 0 6,9 1
 2 8 2,0 8
 4,7 8
 2,1 8
 0,2 8

Basalzellen
 der Haut

6 0,0 0
 2 1 4 3,0 0
 3 5,7 1
 8 0 7 6 9,0 0
 7 6 5 4 0,8 1
 4 2 2 8,1 8
 7 1,6 6
 8,4 6
 1,0 9

Uterus

R 9
 16. Tag
 5 μ Ci / g

6 0,0 0
 9 8 8,0 0
 1 6,4 6
 1 8 0 1 2,0 0
 1 6 2 6 9,0 6
 1 7 4 2,9 3
 2 9,5 4
 5,4 3
 0,7 0

Knorpel

6 0,0 0
 6 1 2,0 0
 1 0,3 0
 6 7 8 8,0 0
 6 3 6 5,4 0
 4 2 2,6 0
 7,1 6
 2,6 7
 0,3 4

Basalzellen
 der Haut

5 7.0 0
1 8 4 7.0 0
3 2.4 0
6 3 1 0 0.0 0
5 9 8 4 9.2 8
3 2 5 9.7 1
5 8.2 0
7.6 2
1.0 1

Uterus

R 10
17. Tag
5 μ Ci/g

6 0.0 0
6 6 5.0 0
1 1.0 8
7 8 8 1.0 0
7 3 7 0.4 1
5 1 0.5 8
8.6 5
2.9 4
0.3 7

Knorpel

Basalzellen
der Haut

6 0.0 0
4 1 8.0 0
6.9 6
2 9 9 5.0 0
2 9 1 2.0 6
8 2.9 3
1.4 0
1.1 8
0.1 5

6 0.0 0
1 6 3 3.0 0
2 7.2 1
4 8 8 3.0 0
4 4 4 4.6 1
4 3 8 8.1 8
7 4.3 7
8.6 2
1.1 1

Uterus

R 11
12. Tag
5 μ Ci/g

Basalzellen
der Haut

6 0.0 0
8 7 3.0 0
1 4.5 5
1 5 2 9 7.0 0
1 2 7 0 2.1 5
2 5 9 4.8 5
4 3.9 8
6.6 3
0.8 5

6 0,0 0
2 3 3 8,0 0
3 8,9 6
9 3 6 8 8,0 0
9 1 1 0 4,0 6
2 5 8 3,9 3
4 3,7 9
6,6 1
0,8 5

Uterus

R 12
19. Tag
5 μ Ci/g

6 0,0 0
1 3 8 1,0 0
2 3,0 1
3 4 5 9 9,0 0
3 1 7 8 6,0 1
2 8 1 2,9 8
4 7,6 7
6,9 0
0,8 9

Knorpel

Basalzellen
der Haut

6 0,0 0
9 9 7,0 0
1 6,6 1
1 7 4 9 5,0 0
1 6 5 6 6,8 1
9 2 8,1 8
1 5,7 3
3,9 6
0,5 1

5 6,0 0
1 3 6 4,0 0
2 4,3 5
3 4 7 3 6,0 0
3 3 2 2 3,1 4
1 5 1 2,8 5
2 7,5 0
5,2 4
0,7 0

Uterus

R 13
20. Tag
5 μ Ci/g

6 0,0 0
8 6 8,0 0
1 4,4 6
1 3 7 2 4,0 0
1 2 5 5 7,0 6
1 1 6 6,9 3
1 5,7 7
4,4 4
0,5 7

Knorpel

Basalzellen
der Haut

6 0,0 0
5 2 6,0 0
8,7 6
5 1 3 0,0 0
4 6 1 1,2 6
5 1 6,7 3
8,7 9
2,9 6
0,3 8

Uterus

R 14

18. Tag

 $5 \mu \text{ Ci/g}$

Knorpel

60.000

70 1,00

11.58

9 2 1 1,00

8 1 9 0, 0 1

1 0 2 0,9 8

17.30

Basalzellen der Haut

4, 1 5

der Haut

0.53

Uterus

R 15

18. Tag

 $2 \mu \text{Ci/g}$

Knorpel

6900

350.00

453

2.19800

204 1.66

1553

204

1.02

621

Basalzellen der Haut

der Haut

9. Literaturverzeichnis

- (1) Alkmaion von Kroton
Das Gehirn als Sitz der Seele.
Zitiert nach:
Rüegg, W.
Antike Geisteswelt I
München 1967. Deutscher Taschenbuch Verlag.
- (2) Amthor, M. ; Tomaskowitz, H.
Ein Verfahren zur Herstellung histologi-
scher Organgroßschnitte.
Z. wiss. Mikrosk. 70 (1970), 130 - 134
- (3) Arnold, R. ; Sandritter, W.
Zytophotometrische Bestimmungen des DNS -
Gehaltes von Zellkernen des Nebennieren -
marks, der Nebennierenrinde und der Schild -
drüse unter verschiedenen experimentellen
Bedingungen.
Histochemie (Berl.) 10 (1967), 88 - 97
- (5) Atlas, M. ; Bond, V.P. ; Cronkite, E.P.
J. Histochem. Cytochem. 8 (1960), 171
Zitiert nach Literaturstelle Nr. 36
- (6) Baig, A.R. ; Telford, I.R.
Histological studies of the placenta and
uterus of the normal and the resorbing
rat fetus.
Biol. neonat. (Basel) 11 (1967), 137 - 150
- (7) Bhargava, J. ; Raja, P.T.K.
An anatomical study of foetal blood vessels
on the chorial surface of the human placenta.
Acta anat. 75 (1970), 13 - 26
- (8) Billington, W.D. ; Kirby, D.R.S. ; Owen, J.J.T. ;
Ritter, M.A. ; Burtonshaw, M.D. ; Evans, E.P. ;
Ford, C.E. ; Gauld, J.K. ; McLaren, A.
Placental barrier to maternal cells.
Nature (Lond.) 224 (1969), 704 - 706
- (9) Borght, O. van der
Basic nuclear aspects of autohistoradio -
graphy (with suggestions concerning color
autoradiography).
Acta histochemica Suppl. 8 (1968), 15 - 21

- (10) Cavalli - Sforza, L.
Biometrie. Grundzüge biologisch - medi -
zinischer Statistik.
Stuttgart 2. Auflage 1969. Gustav Fischer
Verlag
- (11) Cervos - Navarro, J.
Die Bedeutung der Elektronenmikroskopie
für die Lehre vom Stoffaustausch zwischen
dem Zentralnervensystem und dem übrigen
Körper.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 186 (1964), 209 - 237
- (12) Chang, L.O. ; Looney, W.B.
Incorporation of tritiated thymidine into
mitochondria and nuclear DNA in normal
and regenerating rat liver before and after
irradiation.
Int. J. Radiat. Biol. 12 (1967), 187 - 192
- (13) Clara, M.
Entwicklungsgeschichte des Menschen.
Heidelberg 6. Auflage 1967. Quelle u. Meyer
- (14) Corneo, G. ; Zardi, L. ; Folli, E.
Human mitochondrial DNA.
J. molec. Biol. 36 (1968), 419 - 423
- (15) Dancis, J. ; Lind, J. ; Oratz, M. ; Smolens, J. ;
Placental transfer of proteins in human
gestation. Vara, P.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 82 (1961), 167 - 171
- (16) Dancis, J. ; Money, W.L. ; Springer, D. ; Devitz, M.
Transport of amino acids by placenta.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 101 (1968), 820 - 829
- (17) David, H.
Struktur der Mitochondrien.
In: Bielka, H. (Hrsg.)
Molekulare Biologie der Zelle.
Stuttgart 1969. Gustav Fischer Verlag
- (18) Deutsches Institut für medizinische Dokumenta -
tion und Information. Köln.
Merkblatt.

- (19) Diomidova, N.A.
Die embryonale Entwicklung der Haut von
Haustieren.
Zool. Z. 32 (1953), 684 - 700
- (20) Dörmer, P.
Erfahrungen mit der photometrischen Silber -
kornzählung in der Autoradiographie.
Leitz - Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1967), 74 - 78
- (21) Dörmer, P. ; Brinkmann, W.
Silberkornzählung mit dem Auflicht-Mikros -
kopphotometer. Ein Beitrag zur quantitativen
Autoradiographie.
pg. 163 - 170 in (111)
- (22) Enesco, H. E.
A cytophotometric analysis of DNA content
of rat nuclei in aging.
J. Geront. 22 (1967), 445 - 448
- (23) Finegold, M. ; Michie, D.
Experiments of maternal - foetal barrier in
the mouse. I. A test for the Transmission
of maternal erythrocytes across the mouse
placenta following X - irradiation.
J. Embryol. exp. Morph. 9 (1961), 618 - 622
- (24) Fox, H. ; Jacobson, H.N.
Nerve fibers in the umbilical cord and
placenta of two species of sub - human
primates. (Macaca phillipensis and Galago
crassicaudatus)
Acta anat. 73 (1969), 48 - 55
- (25) Franke, H.
Feinstruktur der Placenta. Elektronen -
optische Untersuchungen über die reifende
und reife Placenta der Ratte.
Jena 1969. Gustav Fischer Verlag
- (26) Geigy AG
Documenta Geigy. Wissenschaftliche Tabellen.
(Redaktion: Deim, K.)
Basel, 6. Auflage, 1960.

- (27) Gibor, A.
Chloroplast heredity and nucleic acids.
Amer. Natural. 49 (1965), 229 - 239
- (28) Glasser, S.R.
Transfer of iron across the placenta and
fetal membranes in the rat.
Amer. J. Physiol. 215 (1968), 205 - 210
- (29) Goldstein, A. ; Aronow, L. ; Kalman, S.M.
Principles of drug action.
New York 1968. Hoeber Medical Division
- (30) Grosser, O.
Vergleichende Anatomie und Entwicklungs-
geschichte der Eihäute und der Placenta.
Wien und Leipzig 1909. Wilhelm Braumöller
- (31) Grosser, O.
Über die Bedeutung des intervillösen Raumes.
Arch. Gynäk. 137 (1929), 681 - 689
- (32) Hanson, J.
The histogenesis of the epidermis in the
rat and mouse.
J. Anat. 81(1947), 174 - 197
- (33) Hanson, J.
Differentiation of mammalian epidermis in
tissue culture.
J. Anat. 84 (1950), 30 - 31
- (34) Harbers, E.
Autoradiographie als histochemisches Unter-
suchungsverfahren.
Handbuch der Histochemie Band 1 / I. Teil
(Hrsg.: Graumann, W. ; Neumann, K.)
Stuttgart 1958. Gustav Fischer Verlag
- (35) Harbers, E.
Nucleinsäuren. Biochemie und Funktionen.
Stuttgart 1969. G. Thieme Verlag
- (36) Hayashi, T.T. ; Garvey, B.J.
Transplacental passage of nucleotides,
nucleosides and bases.
Amer. J. Obstet. Gynec. 102 (1968), 1154 - 1161

- (37) Hensleigh, P.A. ; Krantz, K.E.
Extracorporeal perfusion on the human
placenta. I.Placental transfer of ascorbic
acid.
Amer. J. Obstet. Gynec. 96 (1966), 5 - 13
- (38) Horstmann, E.
Die Haut.
Handbuch der mikroskopischen Anatomie des
Menschen. 3. Band. 3. Teil.
(Hrsg.: Möllendorf, W.v. ; Bargmann, W.)
Berlin 1957. Springer Verlag
- (39) Huang, C.C.
Karyologic and autoradiographic studies of
the chromosomes of *Rattus (Nastomys) aestivensis*.
Cytogenetics 7 (1968), 97 - 107
- (40) Kellner, G.
Persönliche Mitteilung.
- (41) Knobel, D.P. ; Michie, D.
Experiments of maternal - foetal barrier in
the mouse. II.A test for the transmission
of maternal serum albumin into the foetal
circulation following X - irradiation.
J. Embryol. exp. Morph. 2 (1961), 623 - 627
- (42) Koburg, E. ; Maurer, W.
Autoradiographische Untersuchungen mit
(³H) - Thymidin über die Dauer der Desoxy -
ribonucleinsäure - Synthese und ihren zeit -
lichen Verlauf bei den Darmepithelien und
anderen Zelltypen der Maus.
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 61 (1962),
229 - 242
- (43) Koch, J. ; Stokstad, E.L.R.
Incorporation of (³H) - thymidine into
nuclear and mitochondrial DNA in synchro -
nized mammalian cells.
Europ. J. Biochem. 3 (1967), 1 - 6

- (44) Kölbel, K.H.
Der Wert des Methacrylat unter heute ge-
bräuchlichen Einbettungsmitteln für bio-
logische Objekte.
Mikroskopie 26 (1970), 142
- (45) Kopriwa, B.M.
A model darkroom unit for radioautography.
J. Histochem. Cytochem. 11 (1963), 553 - 555
- (46) Kühnel, W.
Histologische Untersuchungen an den
Embryonalhüllen der weißen Maus.
Z. Zellforsch. 63 (1964), 194 - 207
- (47) Kutzner, H.J.
Referat über (79).
Berichte wiss. Biol. 286 (1968), 490 - 491
- (48) Laguens, R.P. ; Gómez Dumm, C.L.
Desoxyribonucleic acid synthesis in the
heart mitochondria after acute and ex-
haustive exercise.
Experienta (Basel) 24 (1968), 163 - 164
- (49) Lang, W. ; Müller, D. ; Maurer, W.
Prozentuale Beteiligung von exogenen Thymidin
an der Synthese von DNS - Thymin in Geweben
der Maus und in HeLa - Zellen.
Exp. Cell Res. 49 (1968), 558 - 571
- (50) Lang, W. ; Maurer, W.
Messung der prozentualen Beteiligung von
 ^3H - Thymidin an der DNS - Synthese von Zell -
arten der Maus.
pg. 199 - 203 in (111)
- (51) Lederer, B.
Kombinierte zytophotometrische und autora-
diographische Untersuchungen der DNS - Syn-
theserate.
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft
für Pathologie. 51. Tagung - 1967. pg. 291 - 293
Stuttgart 1967. Gustav Fischer Verlag
- (52) Lederer, B. ; Bütterich, D. ; Moore, G.W. ; Mitter-
Autoradiographic studies on the incorpo - mayer, C.
ration rate of ^3H - Thymidine during the
S - phase of the mitotic cycle.
Beitr. path. 141 (1970), 75 - 80

- (53) Leitz - Wetzlar
 Persönliche Mitteilung.

- (54) Lentis, H.
 Persönliche Mitteilung.

- (55) Litwak, O. ; Taswell, H.F. ; Banner, E.A.
 Transplacental fetal bleeding in
 spontaneous abortion.
 Lancet 1969, 1161 - 1162

- (56) Maurer, W. ; Primbsch, E.
 Größe der B - Selbstabsorption bei der
 ³H - Autoradiographie.
 Exp. Cell Res. 33 (1964), 8 - 18

- (57) Mayersbach, H.
 Zur Frage des Proteinüberganges von der
 Mutter zum Feten. I. Befunde an Ratten am
 Ende der Schwangerschaft.
 Z. Zellforsch. 48 (1958), 479 - 504

- (58) Merker, H. - J.
 Beobachtungen an den DNS - Fäden der Mito-
 chondrien.
 Anat. Anz. 125 (1969), Ergänzungsheft, 229 - 236

- (59) Merker, H. - J. ; Herbst, R. ; Kloss, K.
 Elektronenoptische Untersuchungen an den
 Mitochondrien des Menschlichen Uterus -
 epithels während der Sekretionsphase.
 Z. Zellforsch. 86 (1968), 139 - 152

- (60) Mitznegg, P. ; Heim, F. ; Säbel, M. ; Pauly, H.
 Über die Hemmung des Wachstums fetaler
 Rattenlebern und Plazenten durch
 ionisierende Strahlen.
 Strahlentherapie 139 (1970), 251 - 257

- (61) Mölbert, E.
 Die Orthologie und Pathologie der Zelle
 im elektronenmikroskopischen Bild.
 Handbuch der allgemeinen Pathologie
 2. Band / V. Teil (Hrsg.: Altmann, H.-W. et al)
 Berlin 1968. Springer Verlag

- (62) Morgenstern, E.
 Vergleichende lichtoptische Untersuchungen
 im Rahmen elektronenoptischer Arbeiten an
 ultradünnen Schnitten. II. Färbemethoden.
 Mikroskopie 25 (1969), 250 - 260

- (63) Mossmann, H.W. ; Owers, N.
The strewn placenta: evidence that it is
endothelial-endothelial in type.
Amer. J. Anat. 113 (1963), 245 - 271
- (64) Niklas, A. ; Maurer, W.
Autoradiographie.
Handbuch der physiologisch und pathologisch -
chemischen Analyse. 2. Band.
(Hrsg.: Hoppe/Seyler/Thierfelder)
Berlin 10. Auflage 1955. Springer Verlag
- (65) Nilson, O.
Correlation of structure to function of the
luminal surface in the epithelium of mouse
and man.
Z. Zellforsch. 56 (1962), 803 - 808
- (66) Oehlert, W. ; Nettesheim, P. ; Machemer, R.
Die Anwendung flüssiger Emulsionen bei
autoradiographischen Untersuchungen mit
³H - markierten Substanzen.
Z. Zellforsch. Abt. Histochem. 3 (1962), 99 - 106
- (67) Karnovsky, M.J.
A formaldehyde - glutaraldehyde fixative of high
osmolality for use in electron microscopy.
J. Cell Biol. 27 (1965), 137A - 138A
- (68) Okamoto, N. ; Satow, Y. ; Ikeda, T.
Fine structure of the heart in developing
rat embryo.
Proc. Hiroshima Univ. RINMB 10 (1969), 91 - 107
- (69) Osterhage, K.
Über Zottenbildung am viszeralem Dottersack -
blatt und über das Vorkommen eines Bürsten -
besatzes an den Dotterentodermzellen bei
den Nagern.
Z. mikr. - anat. Forsch. 23 (1931), 43 - 70
- (70) Palo, D. ; Stopelli, J.
Primo Contributo alla Conoscenza dell'
Ultrastruttura della Decidua umana.
Medit. ostetr. Ginecolog. Endocrinol. e
Metabolismo I (N.S.) (1959), 1 - 32
Zitiert nach (72)

- (71) Perry, R.P.
Quantitative autoradiography.
Methods in cell physiology. Vol. I
(Hrsg.: Prescott, D.M.)
New York 1964. Academic Press
- (72) Petry, G.
Zur Morphologie der menschlichen extra-
plazentaren feto-maternen Kontakte.
Anat. Anz. 112 (1963), Ergänzungsheft, 215 - 221
- (73) Petry, G.
Die Morphologie der außerhalb der Placenta
bestehenden feto-maternen Kontakte.
Arch. Gynäk. 198 (1963), 74 - 81
- (74) Petry, G. ; Kühnel, W.
Beitrag zur Kenntnis des Baues von Basal-
membranen.
Z. Zellforsch. 64 (1964), 533 - 540
- (75) Petry, G. ; Kühnel, W.
Der Feinbau des Dottersackepithels und
dessen Beziehung zur Eiweissresorption
(Kaninchen).
Z. Zellforsch. 65 (1965), 27 - 46
- (76) Pfanzagl, J.
Allgemeine Methodenlehre der Statistik. II.
Berlin 2. Auflage 1966. Walter de Gruyter
- (77) Pickworth, J.W. ; Cotton, K. ; Skyring, A.P.
Double emulsion autoradiography for identi-
fying tritium-labelled cells in section.
Stain Technol. 38 (1963), 237 - 244
- (78) Potter, R.L. ; Nygaard, O.F.
The conversion of thymine to thymidine
nucleotides and deoxyribonucleic acid
in vivo.
J. biol. Chem. 238 (1963), 2150 - 2155
- (79) Raettig, H.
Bakteriophagie / Bacteriophagy 1957 - 1965.
Stuttgart 1967. Gustav Fischer Verlag

- (50) Ask - Madsen, J. ; Philip, J.
The chromosome complement of human endo-
metrium.
Cytogenetics 9 (1970), 24 - 41
- (51) Rogers, A.W.
Die Mikroskopie von Autoradiographien.
Leitz-Mitt. Wiss. u. Techn. 3 (1964), 43 - 47
- (52) Rogers, A.W.
Techniques of Autoradiography.
Amsterdam 1969. Elsevier Publishing Comp.
- (53) Romeis, B.
Mikroskopische Technik.
München 10. Auflage 1968. R. Oldenbourg Verlag
- (54) Rosenbauer, K.A.
Zelle, Zellteilung, Keinzellen, Primitiv-
entwicklung und Placentation. Eine allge-
mein-biologische Einleitung.
In: Entwicklung, Wachstum, Mißbildungen und
Altern bei Mensch und Tier.
(Hrsg.: Rosenbauer, K.A.)
Stuttgart 1969. Wissenschaftliche Verlags-
gesellschaft
- (55) Rudolph, A.M. ; Heymann, M.A.
The circulation of the fetus in utero.
Methods for studying distribution of blood
flow, cardiac output, and organ flow.
Circulation Res. 21 (1967), 163 - 184
- (56) Sachs, L.
Statistische Auswertungsmethoden.
Berlin 2. Auflage 1969. Springer Verlag
- (57) Samuels, L.D. ; Kisielleski, W.E.
Toxicological studies of tritiated thymidine.
Radiat. Res. 18 (1963), 620 - 632
- (58) Sanfilippo, S.
Illustrazione delle cellule giganti della
placenta di ratto.
Rend. Soc. ital. Biol. sper. 43 (1967), 1380 -
1383

- (89) Schlegel, D.E. ; de Zoeten, G.A.
Improved resolution in light microscope
radioautography.
J. Cell. Biol. 33 (1967), 728 - 731
- (90) Schröder, R.
Die weiblichen Genitalorgane.
Handbuch der mikroskopischen Anatomie des
Menschen. 7. Band. 1. Teil.
(Hrsg.: Möllendorf, W. v.)
Berlin 1930. Springer Verlag.
- (91) Schröder, R.
Diskussionsbeitrag zu der Beziehung:
autoradiographische Markierung/DNS -
Syntheserate.
Z. Naturforsch. 23 b (1968) , 1123
- (92) Schultze, B.
Die Orthologie und Pathologie des Nuclein-
säure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im
Autoradiogramm.
Handbuch wie (61).
- (93) Schultze, B.
Autoradiography at the Cellular Level.
In: Physical Techniques In Biological
Research. (Hrsg.: Pollister, A.W.)
New York und London 2. Auflage 1969.
Academic Press
- (94) Siebert, G.
Biochemie der Zellstrukturen.
Handbuch wie (61).
- (95) Siewing, R.
Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungs-
geschichte der Tiere.
Hamburg und Berlin 1969. Paul Parey Verlag.
- (97) Slijper, E.J.
Die Geburt der Säugetiere.
Handbuch der Zoologie. 8. Band. 23. Lieferung
(Hrsg.: Helmcke, J. et al.)
Berlin 1959. Walter de Gruyter

- (98) Starck, D.
Ontogenie und Entwicklungsphysiologie der
Säugetiere.
Handbuch der Zoologie. 8. Band. 25. Lieferung.
(Hrsg.: Helmcke, J. et al.)
Berlin 1960. Walter de Gruyter
- (99) Starck, D.
Embryologie. Ein Lehrbuch auf allgemein
biologischer Grundlage.
Stuttgart 2. Auflage 1965. G. Thieme Verlag
- (100) Steiner, G.
Das zoologische Laboratorium.
Stuttgart 1963. E. Schweizerbart'sche
Verlagsbuchhandlung
- (101) Steiner, K. ; Hirschmann, W.
Über die Entwicklung der Basalmembran des
Hautepithels. I. Die Entwicklung der Basal-
membran bei *Mus decumanus albus*.
4. Zellforsch. 5 (1927), 150 - 173
- (102) Thurston, J.M. ; Joffes, D.L.
Stains compatible dipping radioautography.
Stain Technol. 38 (1963), 231 - 235
- (103) Tsutsui, E. ; Srinivasan, P.R. ; Borek, E.
t RNA methylases in tumors of animal and
human origin.
Proc. nat. Acad. Sci. (wash.) 56 (1966),
1003 - 1009
- (104) Wardock, A.R.
Placental transfer of calcium and strontium
in the guinea pig.
Amer. J. Physiol. 213 (1967), 837 - 842
- (105) Uhr, J.W. ; Dancis, J. ; Finkelstein, M.S.
Passage of bacteriophage Φ x 174 across the
placenta in guinea pigs.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 113 (1963),
391 - 394
- (106) Waiman, E. ; Srinivasan, P.R. ; Borek, E.
Alterations in the transfer ribonucleic
acid methylases after bacteriophage in-
fection or induction.
Biochemistry (wash.) 4 (1965), 2845 - 2848

- (107) Wegener, K. ; Hollweg, S. ; Maurer, W.
Autoradiographische Bestimmung der DNS -
Verdoppelungszeit und anderer Teilphasen
bei fetalen Zellarten der Ratte.
Z. Zellforsch. 63 (1964) , 309 - 326
- (108) Westphal, A.
Einführung in die Reflexmikroskopie.
Stuttgart 1963. G. Thieme Verlag
- (109) Wimsatt, W.A.
Some aspects of the comparative anatomy
of the mammalian placenta.
Amer. J. Obstet. Gynec. 84 (1962), 1535 - 1798
- (110) Zietzschmann, O. ; Krölling, O.
Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der
Haustiere.
Berlin und Hamburg 2. Auflage 1955. Paul
Parey Verlag
- (111) Zimmermann, H. ; Fautrez, J. (Hrsg.)
Autoradiographie
Acta histochemica. Supplementband VIII.
Jena 1968. VEB Gustav Fischer Verlag

Nachtrag

- (112) Taylor, J.H. ; Woods, P.S. ; Hughes, W.L.
The organization and duplication of
chromosomes as revealed by autoradio-
graphic studies using tritium-labeled
thymidine.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 43 (1957), 122 - 128

Lebenslauf

Am 6. Januar 1948 wurde ich in Hannover als Sohn des Angestellten Hans Püschmann und seiner Frau Margarete geboren.

Ich wuchs in meinem Geburtsort auf, ging dort zur Schule und legte im September 1966 an der Leibnizschule das Abitur ab. Im Wintersemester 66 / 67 begann ich an der Freien Universität Berlin zunächst Germanistik, dann Medizin zu studieren. Das Studienjahr 1970 / 71 verbrachte ich durch ein Stipendium des Österreichischen Ministers für Wissenschaft und Forschung an der Universität Wien. Mein letztes Studiensemester war ich in Heidelberg, wo ich im Sommer 1972 das medizinische Staatsexamen bestand.

Im Herbst 1972 war ich als Medizinalassistent an der medizinischen Abteilung des Diakonissenkrankenhauses in Speyer tätig. Zur Zeit arbeite im Institut für Pathologie am Klinikum Steglitz.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin

- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31

